



بررسی عوامل موثر بر سنتز نانوپودر زیستی ویتلاکیت ($Ca_{18}Mg_2(HPO_4)_2(PO_4)_{12}$) به روش هم‌رسوبی شیمیایی، خواص فیزیکی و شیمیایی آن‌ها

ساناز چائی کازران^۱، محمد رضوانی^{۲*}، یاشار رضاعی^۲، شادی ساکن‌پور^۳،
پریسا راستگو اسکویی^۳

^۱ کارشناس ارشد مهندسی مواد، سرامیک، گروه مهندسی مواد، دانشگاه تبریز
^۲ استاد تمام، گروه مهندسی مواد، دانشگاه تبریز
^۳ استادیار، گروه زیست مواد دندانی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

^۳ کارشناس ارشد مهندسی مواد، سرامیک، گروه مهندسی مواد، دانشگاه تبریز
^۳ دانشجوی دکتری مهندسی مواد، سرامیک، گروه مهندسی مواد، دانشگاه تبریز



نویسنده اول:

ساناز چائی کازران

نویسنده مسئول:

آقای دکتر محمد رضوانی

دانشگاه تبریز

نوع مقاله: پژوهشی

صفحه‌های: ۶۷ تا ۷۷

شاپا چاپی: ۳۳۵۱-۱۷۳۵

شاپا الکترونیکی: ۳۰۹۷-۲۷۸۳

زبان نشریه: فارسی

دسترس پذیر در نشانی:

www.JICERS.ir

تاریخ دریافت:

۱۴۰۲/۰۴/۱۹

تاریخ پذیرش:

۱۴۰۲/۰۹/۲۱

چکیده: بافت‌های سخت بدن، کامپوزیت‌هایی سه‌بعدی هستند که حدود ۳۰ درصد آن‌ها را الیاف کلاژنی، ۶۰ درصد را ذرات تقویت‌کننده معدنی و ۱۰ درصد مابقی را آب تشکیل می‌دهد. در این میان ایجاد استحکام، مقاومت در برابر ضربه و فشار بر عهده بافت‌های معدنی سخت استخوان‌های بدن مانند ذرات کلسیم فسفاتی می‌باشد. استفاده از سرامیک‌های زیستی کلسیم فسفاتی مانند ویتلاکیت ($Ca_{18}Mg_2(HPO_4)_2(PO_4)_{12}$) به دلیل خواص شیمیایی، زیستی و ساختمان بلوری نزدیک با بافت سخت طبیعی بدن، یکی از متداول‌ترین روش‌های درمان ناهنجاری‌های استخوانی می‌باشد.

هدف از پژوهش حاضر سنتز ویتلاکیت به روش هم‌رسوبی شیمیایی با استفاده از مواد اولیه $Mg(OH)_2$ ، $Ca(OH)_2$ و H_3PO_4 و بررسی تاثیر مولفه های pH، دما و نسبت مواد بر ویتلاکیت سنتز شده است. همچنین به دلیل حساسیت و تغییر اندازه pH با تغییرات دما و تاثیر هر دوی این مولفه‌ها بر روی فازهای بلوری تشکیل شده، تغییرات دما و pH همزمان باهم و تغییرات فازی ایجاد شده در حین واکنش سنتز بررسی شده است. برای مشخصه‌یابی پودرهای سنتز شده در این پژوهش از آنالیزهای XRD، FTIR، SEM و EDS استفاده شد. با کاهش میزان pH و افزایش دما تا $T=80^\circ C$ و $pH=5$ ویتلاکیت خالص با اندازه دانه‌های بلوری ۶۱ nm به دست آمد. با افزایش نسبت غلظت یون‌های Mg^{2+} نسبت به یون‌های Ca^{2+} در محلول واکنش علاوه بر فاز ویتلاکیت، فاز منیزیم فسفات ($MgHPO_4$) و با کاهش این نسبت فاز مونتايت ($CaHPO_4$) یا دی کلسیم فسفات دی‌هیدرات ($CaHPO_4 \cdot 2(H_2O)$) به دست آمد. با افزایش دما تا $70^\circ C$ ، در $pH < 7$ فاز هیدروکسی آپاتیت تشکیل شد. اما هرچه واکنش در این دما به سمت pH های اسیدی پیش رفت، فاز هیدروکسی آپاتیت تبدیل به فاز پایدارتر ویتلاکیت شد. کلمات کلیدی: ویتلاکیت، زیست‌سرامیک، هیدروکسی آپاتیت، زیست‌فعال، هم‌رسوبی شیمیایی، ترمیم استخوان.

DOR: 20.1001.1.17353351.1402.0.0.1.7

۱- مقدمه

فرایند بازسازی استخوان‌های بدن یک فرایند زیستی-فیزیکی-شیمیایی پیچیده است که به میزان زیادی به مواد جابگزین بافت



استخوان طبیعی و شرایط محیطی بستگی دارد، که همگی بر روی رشد، تکثیر و زنده‌مانی سلول‌های استخوان‌ساز بدن تاثیر گذارند [۱]. استخوان‌های بدن انسان کامپوزیت‌هایی سه‌بعدی تشکیل شده از الیاف غیرمعدنی کلاژن و ذرات معدنی کلسیم فسفاتی هستند. ایجاد انعطاف در برابر فشار، مقاومت در برابر ضربه، ایجاد استحکام، ذخیره‌سازی و رهایش پیوسته مواد معدنی مختلف مانند کلسیم، منیزیم و فسفر همگی بر عهده بافت معدنی استخوان‌ها می‌باشد [۲]. یکی از مهم‌ترین اجزای معدنی کلسیم فسفاتی استخوان‌ها؛ ویتلاکیت با ترکیب شیمیایی (Whitlockite: $\text{Ca}_{18}\text{Mg}_2(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_{12}$) و ساختمان بلوری رومبوهدرال [۳] می‌باشد [۴]، که حدود ۲۶ تا ۵۸ درصد وزنی بافت استخوانی دندان‌ها [۵] را شامل می‌شود [۴]. از اصلی‌ترین تفاوت‌های ویتلاکیت نسبت به سایر فازهای کلسیم فسفاتی مانند β -تری کلسیم فسفات ($\beta - \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) وجود (HPO_4^{2-}) و Mg^{2+} در ساختمانی بلوری ویتلاکیت است [۶]. وجود Mg^{2+} در بدن، از عوامل تاثیرگذار در ترمیم استخوان می‌باشد [۷] که می‌تواند به همراه Ca^{2+} ، نقش حیاتی را در چسبندگی و رشد سلول‌های استخوان‌ساز استئوبلاست ایفا کنند [۸]. لذا تعیین نسبت دقیق نسبت‌های Ca/Mg و Ca/P در تشکیل ویتلاکیت می‌تواند یکی از عوامل بسیار مهم در سنتز ویتلاکیت محسوب شود [۹ و ۱۰]. یکی دیگر از تفاوت‌های ویتلاکیت نسبت به سایر فازهای کلسیم فسفاتی محدوده پایداری آن‌ها در pH‌های اسیدی است [۱۱ و ۱۲]. ویتلاکیت در محدوده pH پایین و در جایی که مقدار زیادی از یون‌های (Mg^{2+}) وجود دارد، پایداری خود را حفظ می‌کند [۱۳ و ۱۴]. یون‌های (Mg^{2+}) و (H^+) در ساختار بلوری ویتلاکیت به صورت زنجیره‌های هشت‌وجهی (MgO_6) و (PO_4H) در محورهای سه‌گانه ساختمانی بلوری رومبوهدرال قرار می‌گیرند [۴].

سنتز ویتلاکیت به دلیل پایداری اندک ترمودینامیکی این ماده در pH طبیعی بدن ($\text{pH}=7$) و حساس بودن محدوده دمایی سنتز با دشواری صورت می‌گیرد [۵، ۱۵]. همچنین بسته به تغییرات pH و دمای واکنشی در طی فرایند سنتز، ویتلاکیت می‌تواند به صورت خالص یا همراه با سایر فازهای کلسیم فسفاتی تولید شود [۱۶].

از میان روش‌های گوناگون سنتز نانوذرات ویتلاکیت همچون هم‌رسوبی شیمیایی [۱۷]، هیدروترمال [۱۸]، روش شیمیایی خشک و سل-ژل [۱۹]، روش هم‌رسوبی شیمیایی تر به دلیل دمای سنتز پایین، امکان کنترل پارامترهای فرایند، خلوص نسبتاً بالای حاصل شده و مقرون به صرفه بودن، مورد استفاده قرار می‌گیرد [۳ و ۹].

به طور کلی واکنش تشکیل ویتلاکیت گرماگیر است. واکنش‌های گرماگیر برای ادامه سنتز به یک ورودی انرژی نیاز داشته و عموماً کندتر از واکنش‌های گرماگیر انجام می‌شوند. این بدین معنی است که سنتز ویتلاکیت نیاز به زمان سنتز طولانی و یا دمای سنتز بالاتری دارد. استفاده از دماهای سنتز بالاتر نیز ممکن است بر روی واکنش‌پذیری و یا انحلال‌پذیری مواد اولیه تاثیر گذاشته و باعث ایجاد ناخالصی یا فازهای میانی شود که نیازی به ایجاد آن‌ها در طول واکنش نیست [۲۰]. علاوه بر آن انرژی آزاد شده در طی واکنش نیز می‌تواند اثر به سزایی را بر پایداری و تشکیل فازهای خالص در طول واکنش دارد [۲۱]. استفاده از دماهای سنتز پایین‌تر و محدوده pH مشخص باعث کنترل ساختار بلوری و مورفولوژی ویتلاکیت سنتز شده می‌شود. دماهای سنتز مختلف می‌تواند سینتیک و شرایط ترمودینامیکی انجام واکنش را تغییر دهد، که این عوامل به خودی خود باعث تغییر در سرعت جوانه‌زنی و یا رشد بلورهای ویتلاکیت می‌باشد. با تنظیم دما و pH واکنش سنتز ویتلاکیت می‌توان به بلورهای ویتلاکیت با اندازه دانه‌های بلوری و مورفولوژی مناسب، خلوص بالاتر و درصد بلورینگی بیش‌تری دست یافت. همچنین استفاده از دماهای سنتز متفاوت و تنظیم آن، می‌تواند از ایجاد واکنش‌های ثانویه و ایجاد فازهای میانی جلوگیری کرده و کیفیت ماده نهایی سنتز شده را بهبود بخشد [۲۲].

در این پژوهش تاثیر عوامل مختلف از جمله pH، دمای واکنش و نسبت مواد اولیه بر سنتز ویتلاکیت به روش رسوب شیمیایی مورد بررسی قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- سنتز ویتلاکیت به روش هم‌رسوبی شیمیایی

برای سنتز ویتلاکیت به روش هم‌رسوبی شیمیایی مواد اولیه مورد نیاز طبق جدول (۱) استفاده شد. در ابتدا مواد اولیه $\text{Ca}(\text{OH})_2$ و

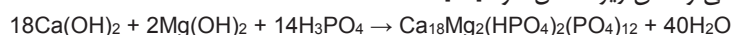


Mg(OH)₂ با مقادیر مختلف نسبت به یکدیگر به همراه ۵۰۰ ml آب مقطر به صورت محلول درآمده و پس از افزودن به یکدیگر در دمای ۴۵°C به مدت ۳۰ دقیقه هم زده شد. سپس H₃PO₄ به صورت قطره قطره به محلول اضافه شده و در دمای مورد نظر به مدت ۱۰ ساعت هم زده شد. پس از ۱۸ ساعت پیرسازی محلول به دست آمده، رسوبات جدا شده با استفاده از کاغذ صافی به مدت ۴ ساعت در دمای ۸۰°C خشک شد.

جدول ۱: مواد مورد نیاز برای سنتز نانوذرات پودری ویتلاکیت

ماده شیمیایی	ترکیب شیمیایی	شرکت سازنده	درصد خلوص	مقدار مصرفی (درصد مولی)
کلسیم هیدروکسید	Ca(OH) ₂	Merck	۹۹	۰/۳۷
منیزیوم هیدروکسید	Mg(OH) ₂	Sigma-Aldrich	۹۵	۰/۱۳
فسفریک اسید	H ₃ PO ₄	Merck	۸۵	۰/۵

مشخصات نانوپودرهای به دست آمده می‌تواند طی واکنش زیر حاصل شود [۱۳]:



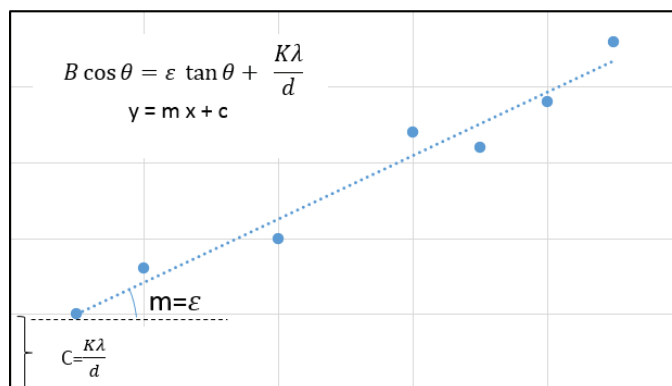
در جدول (۲) نسبت های مختلف مواد اولیه و اثر پارامترهای موثر بر سنتز ویتلاکیت نمایش داده شده است. تنظیم pH با استفاده از میزان اسید فسفریک مصرف شده انجام می‌شود. همچنین برای خلوص بیش تر مواد سنتز شده، رسوب حاصل از واکنش شیمیایی را طی ۳ بار با استفاده از آب مقطر و اتانول شستشو داده سپس در داخل خشک کن قرار می‌دهیم.

جدول ۲: تغییر متغیرهای واکنشی سنتز نانوبلورهای ویتلاکیت با استفاده از روش هم‌رسوبی شیمیایی با دمای خشک شدن ۸۰°C و زمان ۴ ساعت

شماره نمونه	Ca(OH) ₂ (درصد مولی)	Mg(OH) ₂ (درصد مولی)	H ₃ PO ₄ (ml)	pH	دمای هم زدن (°C)
۱	۰/۳۷	۰/۱۳	۲۷۰	۴	۸۰
۲	۰/۳۷	۰/۱۳	۲۰۰	۵	۸۰
۳	۰/۳۷	۰/۱۳	۱۳۰	۶	۸۰
۴	۰/۳۷	۰/۱۳	۲۰۰	۵	۵۰
۵	۰/۳۷	۰/۱۳	۲۰۰	۵	۶۰
۶	۰/۳۷	۰/۱۳	۲۰۰	۵	۷۰
۷	۰/۳۷	۰/۱۳	۲۰۰	۵	۹۰
۸	۰/۴	۰/۱	۱۸۰	۵	۸۰
۹	۰/۳۵	۰/۱۵	۲۳۰	۵	۸۰

۲-۲- ارزیابی و مشخصه‌یابی مواد سنتز شده

با منظور مطالعات فازی پودرهای به دست آمده و ابعاد بلورکها از آنالیز پراش اشعه ایکس (XRD) مدل Diffractometer D-500 ساخت Siemens استفاده شد. آنالیز پراش اشعه ایکس با تابش Cu(Kα) با طول موج ۱/۵۴ Å در محدوده ۵-۸۰° 2θ انجام گرفت. برای تعیین ابعاد بلورکها از رابطه ویلسون-هال استفاده شد. در این روش پهن شدگی پیکها تنها وابسته به اندازه دانه‌های ماده نبوده و کرنش‌های شبکه نیز در کاهش شدت و پهنای پیکها بسیار موثر است. بر اساس این رابطه عرض پیک در نصف شدت بیشینه (FWHM) تابعی از اندازه دانه و همچنین کرنش‌های درون شبکه است. در این روش با استفاده از داده‌های استخراج شده از الگوی پراش، یک خط رسم می‌شود که محور x ها نشانگر sinθ و محور y معادل Bx cosθ می‌باشد. شیب خط نمودار نیز معادل کرنش شبکه و عرض از مبدا خط معادل با ابعاد بلورکها است. به همین دلیل در این پژوهش برای تعیین ابعاد بلورکها به جای رابطه شرر از رابطه ویلسون-هال استفاده شد.



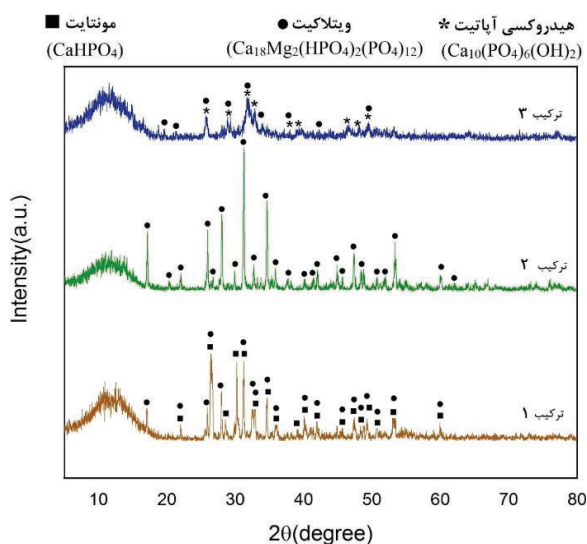
شکل ۲: نمودار رابطه ویلسون-هال

آنالیزهای انتقال فوریه فروسرخ (FT-IR) در محدوده موج $4000-400 \text{ cm}^{-1}$ به منظور بررسی ساختار شیمیایی و پیوندهای پودرهای حاصل و تکمیل تایید نتایج به دست آمده از آنالیز XRD با استفاده از دستگاه مدل Tensor ساخته شرکت Bruker کشور آلمان انجام شد. برای بررسی مورفولوژی و ریزساختار نانوذرات ویتلاکیت از میکروسکوپ الکترون روبشی (SEM) مدل MIRA3FEG-SEM ساخت کمپانی Tescan کشور چک استفاده شد. برای بررسی رفتار حرارتی ویتلاکیت و تعیین فازهای ثانویه به وجود آمده، از دستگاه آنالیز حرارتی همزمان (STA) مدل TA-Q600 ساخت کشور آمریکا استفاده شد. عملیات حرارتی نمونه پودری از دمای محیط تا 1000°C با سرعت گرمایش $10^\circ\text{C}/\text{min}$ انجام شد و تغییرات جرم (TG) و تغییرات دما (DTA) ثبت شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- آنالیز فازی نمونه‌های پودری سنتز شده به روش هم‌رسوبی شیمیایی

همانطور که از شکل (۳) مشخص است، ترکیب‌های ۱، ۲ و ۳ سنتز شده در سه pH مختلف ۴، ۵ و ۶ و محدوده دمای 70°C هستند. نتایج آنالیز پراش اشعه ایکس ترکیب‌های به دست آمده نشان می‌دهد؛ در pH حدود ۴ فازهای تشکیل شده شامل ویتلاکیت و مونتایت (CaHPO_4) می‌باشد. در pH=۵ فاز ویتلاکیت با ابعاد دانه‌های بلوری ۶۱ nm حاصل شد. همچنین در pH=۶ فازهای ویتلاکیت و هیدروکسی آپاتیت ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) تشکیل شد.



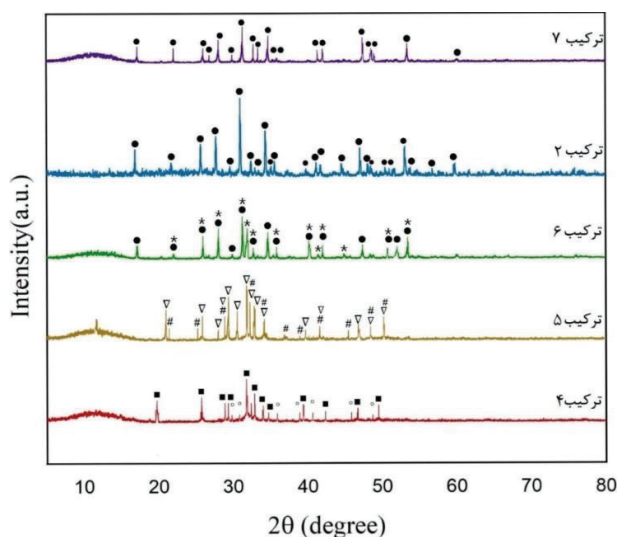
شکل ۳: الگوی پراش اشعه ایکس نمونه سنتز شده در دمای 80°C ، ترکیب ۱ (pH=۴)، ۲ (pH=۵) و ۳ (pH=۶)

با توجه به مطالعات کوراً پینا و همکارانش [۵] و [۲۲] سنتز ویتلاکیت در دمای حدود 45°C تا 90°C انجام می‌شود که با توجه به شرایط واکنش سنتز می‌تواند متفاوت باشد که به عوامل گوناگونی مانند اندازه pH، زمان واکنش [۴]، شرایط و ویژگی‌های شیمیایی واکنش و شرایط گرمادهی وابسته است [۲۳]. در مرحله دوم برای تعیین دمای مناسب برای سنتز نانوپودرهای ویتلاکیت در $\text{pH} = 5$ ، دماهای مختلف $50-90^{\circ}\text{C}$ با گام‌های دمای 10°C بررسی شد. در ترکیب ۴ در دمای 50°C فازهای تشکیل شده در حین فرایند سنتز شامل فازهای منیزیم هیدروکسید ($\text{Mg}(\text{OH})_2$) و مونتایت بودند (شکل ۴). در این مرحله از سنتز تنها $\text{Ca}(\text{OH})_2$ به صورت جداگانه با محلول H_3PO_4 وارد واکنش می‌شوند و واکنشی میان $\text{Mg}(\text{OH})_2$ و H_3PO_4 صورت نمی‌گیرد. در ترکیب ۵ و دمای 60°C فاز مونتایت و منیزیم فسفات تشکیل شد. در ترکیب ۶ با دمای واکنشی 70°C فاز بلوری ویتلاکیت با ابعاد بلورهای 58 nm و هیدروکسی آپاتیت حاصل شد. در ترکیب ۲ در دمای واکنشی 80°C فاز ویتلاکیت با ابعاد بلورهای 61 nm سنتز شد. در دمای نزدیک به دمای جوش نیز (90°C) نیز (ترکیب ۷) فاز ویتلاکیت با ابعاد بلورهای 50 nm به دست آمد.

بر اساس نتایج حاصل از آنالیز پراش اشعه ایکس، زمانی که دما تا 70°C افزایش یابد، مواد اولیه شروع به واکنش کرده و فاز بلوری ویتلاکیت تشکیل می‌شود. در محدوده دمای 70°C تا 80°C فاز بلوری ویتلاکیت ایجاد شده، رشد کرده و اندازه بلورها افزایش می‌یابد. افزایش دمای واکنشی از 80°C تا 90°C تاثیری بر روی فازهای بلوری ویتلاکیت تشکیل شده نداشته و تنها ابعاد بلورهای ایجاد شده را تا حدود 50 nm کاهش می‌دهد.

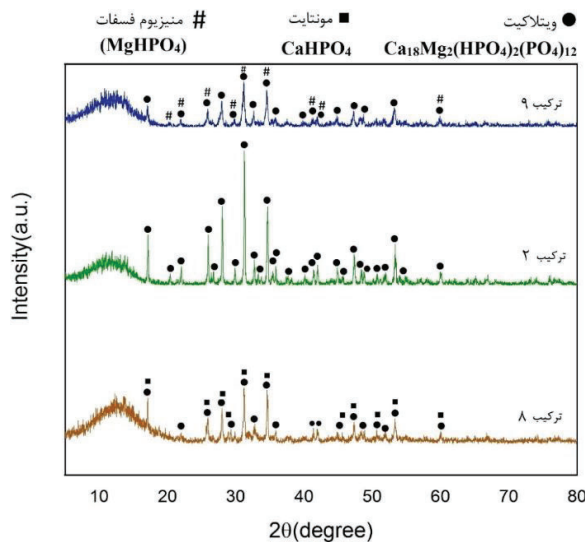
با بررسی مطالعات جنتایل و همکارانش [۲۴]، سرعت جوانه‌زنی و میزان رشد جوانه‌های ویتلاکیت به دمای سنتز، زمان سنتز و pH محیط واکنشی وابسته هستند. با افزایش دمای واکنش، میزان واکنش‌پذیری یون‌های موجود افزایش می‌یابد و احتمال تشکیل جوانه‌های فاز ویتلاکیتی افزایش می‌یابد. هر چه دمای واکنش بیشتر شود، تمایل به تشکیل جوانه‌های ویتلاکیت بیشتر شده اما این جوانه‌ها فرصت رشد نمی‌یابند. بنابراین، افزایش دما ممکن است سرعت جوانه‌زنی را افزایش دهد، اما فرصت رشد کافی را به بلورهای ایجاد شده نمی‌دهد.

لذا با توجه به نتایج حاصل شده، افزایش دما بیش از 80°C برای سنتز ویتلاکیت نه تنها تاثیر چندانی بر روی فازهای تشکیل شده نداشت، بلکه تغییر چندانی را نیز در ابعاد بلورهای ویتلاکیت ایجاد نکرد. بنابراین تا این مرحله از تحقیق، ویتلاکیت با ابعاد بلوری 61 nm مربوط به ترکیب ۲ به عنوان نمونه بهتری ($T = 80^{\circ}\text{C}$, $\text{pH} = 5$) انتخاب شد.



شکل ۴: الگوی پراش اشعه ایکس نمونه‌های سنتز شده در $\text{pH} = 5$ ، ترکیب ۴ (50°C)، ترکیب ۵ (60°C)، ترکیب ۶ (70°C)، ترکیب ۲ (80°C) و ترکیب ۷ (90°C)

با توجه به مطالعات قبلی انجام شده توسط جانگ [۱۱] و همکارانش می‌توان گفت، برای تشکیل ویتلاکیت نسبت کاتیون‌ها به آنیون‌ها (Ca+Mg/P) برابر ۱ و نسبت یون‌های (Ca:Mg:P) برابر با $x : 0/5 : x : 0/5$ می‌باشد. کاهش یا افزایش مقدار x در روش هم‌رسوبی شیمیایی می‌تواند بر روی فازهای بلوری تشکیل شده در حین واکنش سنتز اثرگذار باشد. در ادامه مقادیر $0/15$ ، $0/13$ ، $0/1$ درصد مولی در نظر گرفته شدند. شکل (۵) نتایج الگوی پراش اشعه ایکس ترکیب ۳ ترکیب ۲، ۸ و ۹ را نشان می‌دهد. در ترکیب ۸ زمانی که $x = 0/1$ درصد مولی است، فازهای ویتلاکیت و مونتایت و در ترکیب ۹ زمانی که $x = 0/15$ درصد مولی است، فازهای ویتلاکیت و منیزیم فسفات ($MgHPO_4$) تشکیل شد.



شکل ۵: الگوی پراش اشعه ایکس ترکیب‌های سنتز شده ۲، ۸ و ۹ (pH=۵ و $T = 80^\circ C$)

همانطور که در شکل (۵) مشخص است، زمانی که $x = 0/1$ درصد مولی است (ترکیب ۸) ابعاد بلورهای تشکیل شده ویتلاکیت برابر 25 nm بوده و زمانی که $x = 0/15$ درصد مولی است (ترکیب ۹) ابعاد آن‌ها برابر با 34 nm به دست آمد. بر طبق نتایج حاصل شده می‌توان گفت، زمانی که غلظت یون‌های منیزیم در محلول کمتر یا بیشتر از $x = 0/13$ درصد مولی است، فاز ویتلاکیت بلوری تشکیل شده بسیار ریزتر از حالت بهینه (61 nm) به دست آمده است. همچنین در ترکیب ۲ نسبت $(Ca:Mg:P = 1/27 : 0/14 : 1)$ حاصل شد که بطور نسبی نزدیک به حالت ویتلاکیت استوکیومتری با نسبت‌های $(1 : 0/14 : 0/13)$ می‌باشد.

در نهایت نمونه نانوپودر ویتلاکیت بلوری تشکیل شده بهینه در جدول (۳) آمده است:

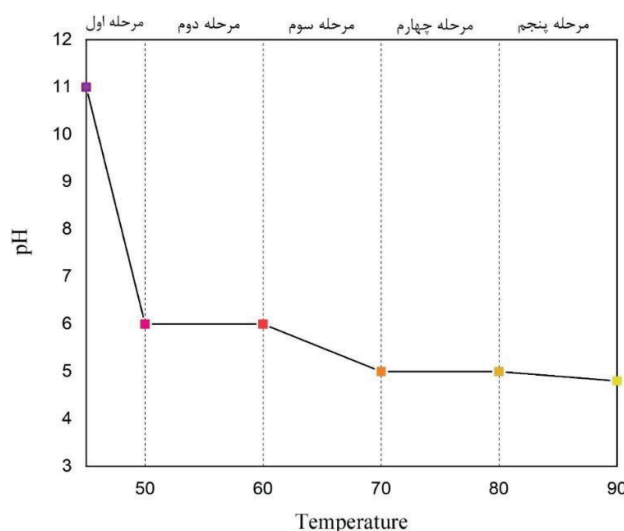
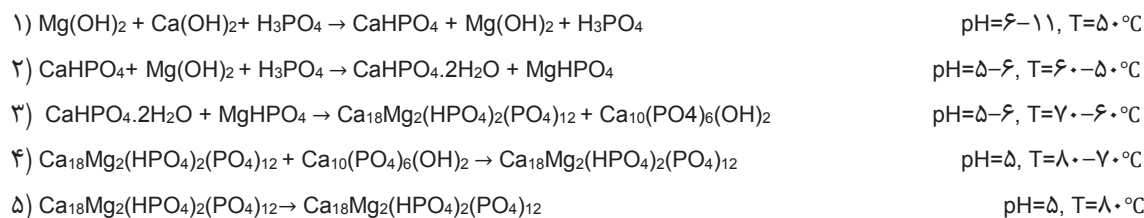
جدول ۳: ترکیب بهینه نانوپودر ویتلاکیت سنتز شده (ترکیب ۲)

نام نمونه	(Ca(OH) ₂) (درصد مولی)	(Mg(OH) ₂) (درصد مولی)	(H ₂ O) (ml)	(H ₃ PO ₄) (ml)	pH	دمای واکنش (°C)	زمان واکنش (h)	زمان پیرسازی (h)	دمای خشک کردن (°C)	زمان خشک کردن (h)	ابعاد بلورها (nm)
۲	0/37	0/13	500	200	5	80	10	18	80	4	61

شکل (۶) نمودار تغییرات میزان pH نسبت به دما را در سنتز ترکیب ویتلاکیت و تغییرات فازهای بلوری به وجود آمده در طی واکنش سنتز را نشان می‌دهد. تغییر دمای واکنش سنتز ویتلاکیت می‌تواند با اثرگذاری بر روی انحلال‌پذیری مواد اولیه واکنش باعث تغییر در pH محیط واکنش شود. در نتیجه تغییر دما می‌تواند با تاثیر بر تعادل بین مواد اسیدی و بازی در مخلوط واکنش، pH را تغییر دهد. بنابراین کنترل و تنظیم آن با تغییرات دما در طول فرایند سنتز برای اطمینان از شرایط بهینه برای تشکیل ویتلاکیت مهم است [۲۳]. در ابتدا در دمای $45^\circ C$ قبل از شروع واکنش میان مواد اولیه اندازه pH در حدود ۱۱ است. با شروع



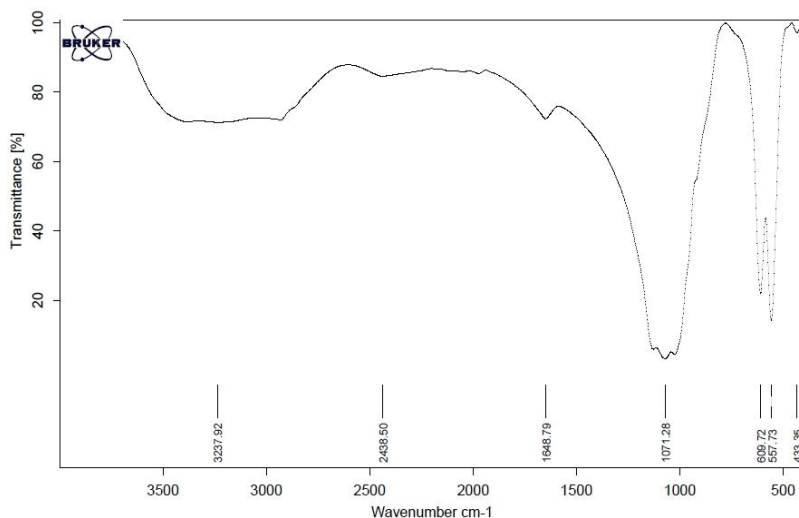
واکنش سنتز از مرحله اول تا مرحله پنجم و تغییرات دما در محدوده 50°C - 90°C اندازه pH محلول تا حدود 4 کاهش یافت. در مرحله اول با افزایش دما تا 50°C و در محدوده $\text{pH} = 5-11$ فاز میانی مونتاژ به وجود آمده و منیزیم هیدروکسید وارد واکنش با اسید فسفریک نشد. با پیشروی واکنش و افزایش دما تا 60°C ؛ اندازه pH در محدوده $\text{pH} = 5-6$ تغییر کرده و فازهای میانی دی کلسیم فسفات دی هیدرات $(\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O})$ و منیزیم فسفات (MgHPO_4) تشکیل شد. در مرحله سوم، با کاهش $\text{pH} = 5-6$ و افزایش دما در محدوده 70°C تا 80°C ؛ فازهای ویتلاکیت و هیدروکسی آپاتیت تشکیل شدند. در مرحله چهارم با تغییر دما در بازه 80°C - 90°C در $\text{pH} = 5$ ؛ فاز هیدروکسی آپاتیت به فاز بلوری ویتلاکیت تبدیل شد. در مرحله پنجم نیز در دمای 80°C بلورهای ویتلاکیت حاصل شده در حین واکنش سنتز بزرگ تر شده و رشد کردند.



شکل 6: نمودار تغییرات pH بر حسب دما ($^{\circ}\text{C}$) در طی 5 مرحله مختلف سنتز ویتلاکیت به روش هم‌رسوبی شیمیایی

۳-۲- طیف‌سنجی تبدیل فوریه فروسرخ (FTIR) نمونه نانوپودر سنتز شده ویتلاکیت

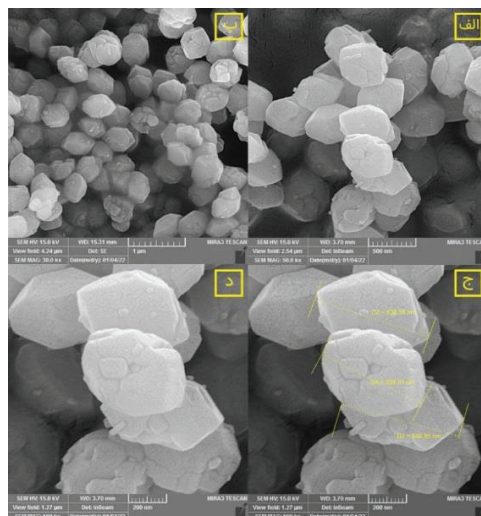
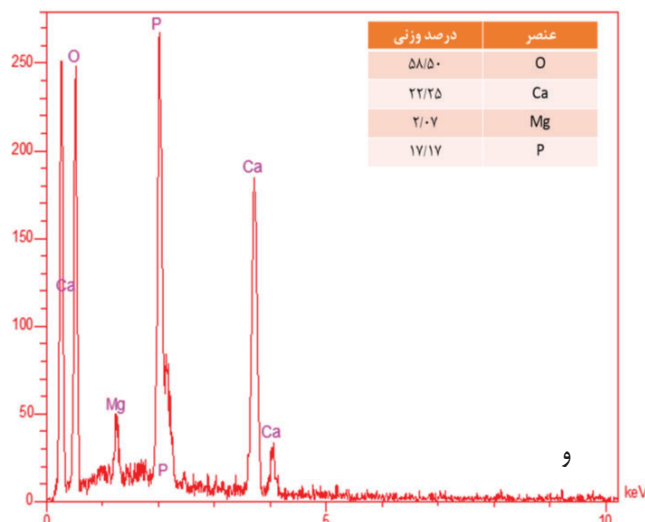
شکل (۷) طیف‌سنجی (FTIR) نانوپودر ویتلاکیت (ترکیب ۲) را نشان می‌دهد. منطقه اصلی عدد موج برای بررسی الگوی (FTIR) ویتلاکیت و سایر ترکیبات کلسیم فسفاتی محدوده 800 cm^{-1} تا 1100 cm^{-1} است [۱۳]. ساختار بلوری ویتلاکیت شامل گروه‌های هیدروکسیل و گروه‌های فسفاتی است. وجود باند جذبی قوی در عدد موج 1071 cm^{-1} نشان‌دهنده ارتعاش کششی گروه فسفاتی $(\text{PO}_4)^{3-}$ می‌باشد. باندهای جذبی موجود در 929 cm^{-1} و 609 cm^{-1} می‌تواند مربوط به ارتعاشات کششی اتصال (O-P-O) در گروه فسفاتی $(\text{PO}_4)^{3-}$ و ارتعاشات خمشی اتصال (O-P-O) در گروه فسفاتی $(\text{PO}_4)^{3-}$ باشد. پیک شاخص در 872 cm^{-1} مربوط به گروه‌های $(\text{HPO}_4)^{2-}$ می‌باشد، که مشخصه وجود ویتلاکیت استخوانی در این نمونه است. همچنین باند کششی نامتقارن گروه فسفاتی $(\text{PO}_4)^{3-}$ در عدد موج 1132 cm^{-1} قابل مشاهده است. باندهای جذبی موجود در عدد موج‌های 1648 cm^{-1} و 3237 cm^{-1} نیز می‌تواند مربوط به آب ساختاری نمونه ۲ باشد. همچنین باندهای جذبی ضعیف در بازه 3000 cm^{-1} تا 3500 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات کششی گروه‌های هیدروکسیل هستند.



شکل ۷: نمودار طیف‌سنجی تبدیل فوریه فروسرخ (FTIR) نمونه نانوپودر سنتز شده ویتلاکیت (نمونه ۲)

۳-۳- بررسی ریز ساختار میکروسکوپی و مورفولوژی نمونه ویتلاکیت

همان‌طور که در شکل (۸) مشخص است، نمونه (۲) سنتز شده ویتلاکیت حاصل از روش رسوب شیمیایی دارای مورفولوژی شش ضلعی با اندازه دانه‌های حدود ۶۰۰ nm و توزیع اندازه دانه‌های نسبتاً همگن می‌باشد. شرایط رسوب ویتلاکیت در حین سنتز تاثیر به‌سزایی را در اندازه بلورهای به وجود آمده و مورفولوژی آن‌ها دارد. هر چه زمان انجام واکنش سنتز طولانی‌تر و دمای سنتز پایین‌تر باشد بلورهای تشکیل شده کوچک‌تر و مورفولوژی همگن‌تری خواهد داشت. نمونه‌های ویتلاکیت سنتز شده تنها متشکل از عناصر اکسیژن، فسفر، منیزیم و کلسیم می‌باشد. میزان هر یک از عناصر موجود در نمونه‌ها بر حسب درصد وزنی در شکل مشخص شده است. همچنین با توجه به نتایج تقریبی کمی EDS حاصل (شکل ۸- قسمت و)، نسبت مولی (Ca/P) در نمونه ویتلاکیت سنتز شده (نمونه ۲) برابر با ۱/۲۹ و نسبت مولی (Ca/Mg) در آن برابر با ۱۰/۷۴ می‌باشد، که به طور نسبی تطابق خوبی با ویتلاکیت استوکیومتری (۱:۱۴:۰/۲۸) (Ca:Mg:P) دارد.



شکل ۸: تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) نمونه ویتلاکیت سنتز شده به روش رسوب شیمیایی (الف) بزرگنمایی ۵۰۰ برابر، (ب) بزرگنمایی ۱۰۰۰ برابر، (ج و د) بزرگنمایی ۲۰۰ برابر و اندازه دانه‌های تقریبی ۶۰۰ nm (و) آنالیز EDS نمونه ویتلاکیت سنتز شده (نمونه ۲)



۴- نتیجه گیری

در این پژوهش سنتز ویتلاکیت به روش هم‌رسوبی شیمیایی و تاثیر عوامل مختلف واکنشی از جمله pH، دمای واکنش و نسبت مواد اولیه بر فازهای بلوری سنتز شده و تشکیل ویتلاکیت مورد ارزیابی قرار گرفت. با توجه به تشکیل ویتلاکیت بهینه در دمای 80°C و $\text{pH}=5$ می‌توان نتیجه گرفت، ویتلاکیت یک فاز بلوری پایدار در محیط‌های اسیدی است که قابلیت تشکیل در $\text{pH}=5-6$ را داراست. با شروع واکنش سنتز و افزایش دما تا 80°C و افزودن H_3PO_4 ، پنج مرحله مختلف واکنش میان مواد اولیه و فازهای بلوری میانی ایجاد شد، که در نهایت هیچ یک از این فازهای بلوری میانی پایدار نبوده و در $\text{pH}=5$ فاز پایدار بلوری ویتلاکیت به دست آمد.

از طرفی با بررسی فازهای بلوری تشکیل شده در دماهای بالاتر و pH کم‌تر می‌توان گفت، پایداری ویتلاکیت در محدوده $\text{pH}=5-6$ بالاتر از $\text{pH}=4$ است. در $\text{pH}=4$ علیرغم افزایش دمای واکنش تا 80°C تنها فاز ویتلاکیت تشکیل نشده و موتنایت نیز تشکیل شد. با نزدیک شدن به $\text{pH}=6$ نیز در همان دما فاز هیدروکسی آپاتیت به همراه ویتلاکیت تشکیل شد. در دماهای سنتز پایین‌تر از 70°C فاز ویتلاکیت تشکیل نشده و افزایش دما در محدوده $80-90^{\circ}\text{C}$ و $\text{pH}=5$ باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی شده اما سرعت رشد را کاهش داده است.

علاوه بر آن با بررسی نسبت‌های مواد اولیه نسبت به یکدیگر و محلول اسید فسفریک، مقدار بهینه H_3PO_4 (۰/۵) و $\text{Mg}(\text{OH})_2$ (۱/۳) و نسبت غلظت یون‌ها $(\text{Mg}^{2+}+\text{Ca}^{2+})/\text{PO}_3^{2-}=1$ حاصل شد. کاهش نسبت یون‌های Ca^{2+} به Mg^{2+} در واکنش باعث ایجاد فاز منیزیم فسفات شده و افزایش این نسبت باعث تشکیل فاز موتنایت یا دی‌کلسیم فسفات دی‌هیدرات در کنار ویتلاکیت شده است.

منابع

- [1]. Jeong, J., Kim, J.H., Shim, J.H., Hwang, N.S. and Heo, C.Y., 2019. Bioactive calciumphosphate materials and applications in bone regeneration. *Biomaterials research*, 23(1), pp. 1-11.
- [۲]. سلانز چائی کازران و محمد رضوانی، بررسی رفتار زیست‌فعال و زیست‌تخریب‌پذیری نانوذرات ویتلاکیت $(\text{Ca}_{18}\text{Mg}_2(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_{12})$ برای کاربرد ترمیم بافت های سخت بدن، فصلنامه سرامیک ایران، دوره ۱۸، شماره ۴، تابستان ۱۴۰۱.
- [3]. Debroise, T., Colombo, E., Belletti, G., Vekeman, J., Su, Y., Papoular, R., Hwang, N.S., Bazin, D., Daudon, M., Quaino, P. and Tielens, F., 2020. One step further in the elucidation of the crystallographic structure of whitlockite. *Crystal Growth & Design*, 20(4), pp. 2553-2561.
- [4]. Batool, S., Liaqat, U., Hussain, Z. and Sohail, M., 2020. Synthesis, characterization and process optimization of bone whitlockite. *Nanomaterials*, 10(9), p. 1856.
- [5]. Jang, H.L., Jin, K., Lee, J., Kim, Y., Nahm, S.H., Hong, K.S. and Nam, K.T., 2014. Revisiting whitlockite, the second most abundant biomineral in bone: nanocrystal synthesis in physiologically relevant conditions and biocompatibility evaluation. *ACS nano*, 8(1), pp. 634-641.
- [6]. Driessens, F.C.M., 1980. Probable phase composition of the mineral in bone. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 35(5-6), pp. 357-362.
- [7]. Jin, Y.Z., Zheng, G.B., Jang, H.L., Lee, K.M. and Lee, J.H., 2019. Whitlockite promotes bone healing in rabbit ilium defect model. *Journal of Medical and Biological Engineering*, 39, pp. 944-951.
- [8]. Yang, Y., Wang, H., Yang, H., Zhao, Y., Guo, J., Yin, X., Ma, T., Liu, X. and Li, L., 2020. Magnesium-based whitlockite bone mineral promotes neural and osteogenic activities. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 6(10), pp. 5785-5796.
- [9]. Kazakova, G., Safronova, T., Golubchikov, D., Shevtsova, O. and Rau, J.V., 2021. Resorbable Mg^{2+} -containing phosphates for bone tissue repair. *Materials*, 14(17), p. 4857.
- [10]. Afonina, A., Kizalaite, A., Zarkov, A., Drabavicius, A., Goto, T., Sekino, T., Kareiva, A. and Grigoraviciute-Puroniene, I., 2022. Synthesis of whitlockite nanopowders with different magnesium content. *Ceramics International*, 48(21), pp. 32125-32130.
- [11]. Jang, Hae Lin, Guang Bin Zheng, Jungha Park, Hwan D. Kim, Hae-Ri Baek, Hye Kyoung Lee, Keunho Lee et al. "In Vitro and In Vivo Evaluation of Whitlockite Biocompatibility: Comparative Study with Hydroxyapatite and β -Tricalcium Phosphate." *Advanced healthcare materials* 5, no. 1 (2016): 128-136.
- [12]. Davatch, F. (2009), *Rheumatology in Iran*. *International Journal of Rheumatic Diseases*, 12: 283-287.
- [13]. Kalita, Samar J., Abhilasha Bhardwaj, and Himesh A. Bhatt. "Nanocrystalline calcium phosphate ceramics



- in biomedical engineering." *Materials Science and Engineering: C* 27, no. 3 (2007): 441-449.
- [14]. Jang, Hae Lin, Hye Kyoung Lee, Kyoungsook Jin, Hyo-Yong Ahn, Hye-Eun Lee, and Ki Tae Nam. "Phase transformation from hydroxyapatite to the secondary bone mineral, whitlockite." *Journal of Materials Chemistry B* 3, no. 7 (2015): 1342-1349.
- [15]. Qi, Chao, Ying-Jie Zhu, Feng Chen, and Jin Wu. "Porous microspheres of magnesium whitlockite and amorphous calcium magnesium phosphate: microwave-assisted rapid synthesis using creatine phosphate, and application in drug delivery." *Journal of Materials Chemistry B* 3, no. 39 (2015): 7775-7786.
- [16]. Lagier, R., and C-A. Baud. "Magnesium whitlockite, a calcium phosphate crystal of special interest in pathology." *Pathology-Research and Practice* 199, no. 5 (2003): 329-335.
- [17]. Salma, K., Berzina-Cimdina, L. and Borodajenko, N., 2010. Calcium phosphate bioceramics prepared from wet chemically precipitated powders. *Processing and Application of Ceramics*, 4(1), pp. 45-51.
- [18]. Guo, X., Liu, X., Gao, H., Shi, X., Zhao, N. and Wang, Y., 2018. Hydrothermal growth of whitlockite coating on β -tricalcium phosphate surfaces for enhancing bone repair potential. *Journal of materials science & technology*, 34(6), pp. 1054-1059.
- [19]. Wang, C., Jeong, K.J., Park, H.J., Lee, M., Ryu, S.C., Hwang, D.Y., Nam, K.H., Han, I.H. and Lee, J., 2020. Synthesis and formation mechanism of bone mineral, whitlockite nanocrystals in tri-solvent system. *Journal of colloid and interface science*, 569, pp. 1-11.
- [20]. Ramesh, S., Natasha, A.N., Tan, C.Y., Bang, L.T., Niakan, A., Purbolaksono, J., Chandran, H., Ching, C.Y. and Teng, W.D., 2015. Characteristics and properties of hydroxyapatite derived by sol-gel and wet chemical precipitation methods. *Ceramics International*, 41(9), pp. 10434-10441.
- [21]. Szterner, P. and Biernat, M., 2022. Effect of reaction time, heating and stirring rate on the morphology of HAp obtained by hydrothermal synthesis. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 147(23), pp. 13059-13071.
- [22]. Correa-Piña, B.A., Gomez-Vazquez, O.M., Londoño-Restrepo, S.M., Zubieta-Otero, L.F., Millan-Malo, B.M. and Rodriguez-García, M.E., 2021. Synthesis and characterization of nano-hydroxyapatite added with magnesium obtained by wet chemical precipitation. *Progress in Natural Science: Materials International*, 31(4), pp. 575-582.
- [23]. Rosa, A.L., Farias, L.R., Dias, V.P., Pacheco, O.B., Morisso, F.D., Junior, L.F.R., Sagrillo, M.R., Rossato, A., Santos, L.A. and Volkmer, T.M., 2022. Effect of synthesis temperature on crystallinity, morphology and cell viability of nanostructured hydroxyapatite via wet chemical precipitation method: Effect of temperature on hydroxyapatite properties. *International Journal of Advances in Medical Biotechnology-IJAMB*, 5(1), pp. 29-35.
- [24]. Gentile, P., Wilcock, C.J., Miller, C.A., Moorehead, R. and Hatton, P.V., 2015. Process optimisation to control the physico-chemical characteristics of biomimetic nanoscale hydroxyapatites prepared using wet chemical precipitation. *Materials*, 8(5), pp. 2297-2310.



Whitlockite Nanopowders: Synthesis, Process optimization and Effect of Synthetic Parameters on Chemical and Physical Properties

Sanaz Chaei Kazran¹, Mohammad Rezvani^{2*}, Yashar Rezaei², Parisa Rastgoo Oskouei³, Shadi Sakenpour³

¹ Master of materials Science and Engineering student, Materials Engineering Department, Tabriz University

^{2*} Full professor, Materials Engineering Department, Tabriz University

² Assistant Professor, Dental Biomaterials Research Group, Dentistry Faculty, Tabriz University of Medical Sciences

³ Ph.D. student Of Materials Science and Engineering student, Materials Engineering Department, Tabriz University

³ Master of Materials Science and Engineering student, Materials Engineering Department, Tabriz University

* m-rezvani@tabrizu.ac.ir

Abstract: Hard tissues in the body consist of intricate three-dimensional composites, wherein approximately 30% constitutes collagen fibers, 60% mineral reinforcing particles, and 10% water. The mineral copounds of Natural bone tissues, such as calcium phosphate materials play a fundamental role in enhancing strength, hardness, and pressure resilience. The use of calcium phosphate bioceramics as bone grafts, such as Whitlockite ($\text{Ca}_{18}\text{Mg}_2(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_{12}$), offers a promising method for treating bone defects due to its close chemical, biological, and crystalline resemblance to natural hard tissue. Also, Its biocompatibility, functionality, stability under acidic pH, negative surface charge, osteo inductivity and osteo conductivity, and maintaining Mg ions in their crystal structure make it an ideal bone substitute as compared to the other Ca-P bio ceramics.

This study aims to synthesize Whitlockite nanopowders using the chemical precipitation method with the precursors $\text{Mg}(\text{OH})_2$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$, and H_3PO_4 , and investigate the effects of pH, temperature, and Ca/Mg and Ca/P ions ratios on the synthesized Whitlockite. Additionally, the impact of varying temperature and pH on the reactions during Whitlockite synthesis is explored. To characterize the synthesized powders, XRD, FTIR, SEM, and EDS analyses were employed. The results revealed that optimizing pH to 5 and temperature to 80°C yielded Whitlockite with a crystal grain size of 61 nm. Increasing the ratio of ($\text{Mg}^{2+}/\text{Ca}^{2+}$) ions concentrations in the reaction solution resulted in the formation of the Whitlockite phase and the magnesium phosphate phase (MgHPO_4), while decreasing that ratio produced the monetite phase (CaHPO_4) or dicalcium phosphate dihydrate ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2(\text{H}_2\text{O})$). Furthermore, at 70°C, the formation of hydroxyapatite initially occurred, however the reaction favored the transformation into the more stable Whitlockite phase as pH values became acidic. In conclusion, this research highlights the significance of chemical precipitation for Whitlockite synthesis, providing valuable insights into the influence of pH, temperature, and ion ratios on the resulting crystalline phases. The findings contribute to a deeper understanding of the potential applications of Whitlockite as a bioceramic material for bone defects treatment.

Keywords: Whitlockite Synthesis, Wet Precipitation Method, Hydroxyapatite, Process Optimization, Bioactivity, Bone regeneration